

ÉVALUATION DE LA CAPACITÉ VECTORIELLE DE *GLOSSINA TACHINOIDES* (DIPTERA, GLOSSINIDAE) VIS-À-VIS DE *TRYPANOSOMA (NANNOMONAS) CONGOLENSE* : IMPLICATIONS ÉPIDÉMIOLOGIQUES

REIFENBERG J.M.*, CUISANCE D.*, GIDUDU A.**, CUNY G.***, DUVALLET G.* & FREZIL J.L.***

Summary : VECTORIAL CAPACITY OF *GLOSSINA TACHINOIDES* INFECTED BY *TRYPANOSOMA (NANNOMONAS) CONGOLENSE*

A total of 182 *Glossina tachinoides* were infected with *Trypanosoma congolense* savannah type. Infection rates were determined according to microscopical examination of dissected flies and PCR on proboscis. Different techniques of trypanosomes detection in the saliva of live tsetse flies were compared. Results show a high percentage of immature infection rates. PCR amplification of trypanosomes in tsetse flies proboscis confirm parasitological observations. The salivation technique showed fluctuations of the number of trypanosomes deposited with saliva. Variability between individual flies was observed in the mean number of parasites ejected, the rate of positive salivates detected by PCR and the rate of infected mice. PCR technique was as efficient as parasitological technique to detect trypanosomes in the salivates. The infectivity on mice was the less efficient method. These results improve our knowledge on *G. tachinoides* vectorial competence in the laboratory, and precise the role of this tsetse species in the epidemiology of this disease.

KEY WORDS : *Glossina tachinoides*, *Trypanosoma congolense*, vectorial competence, vectorial capacity, salivation, PCR, epidemiology.

Résumé :

Cent quatre vingt-deux *Glossina tachinoides* ont été infectées avec *Trypanosoma congolense* type « savane ». Les taux d'infection ont été évalués par examen microscopique et par PCR. L'émission des trypanosomes par salivation provoquée a été étudiée selon différentes techniques de détection des parasites qui ont été comparées. Les résultats des dissections ont révélé un fort pourcentage d'infections immatures. La technique PCR appliquée sur les proboscis a confirmé les résultats parasitologiques. Les expériences de salivation ont montré une grande variabilité, inter et intra-individuelle, dans l'émission des trypanosomes lors des sondages. La technique PCR a été équivalente à l'examen microscopique pour détecter les trypanosomes dans les salivats. La méthode de xénodiagnostic inverse s'est révélée la moins performante des trois pour détecter les glossines infectantes. L'ensemble de ces résultats a permis de préciser la capacité vectorielle de *G. tachinoides* vis-à-vis de *T. congolense* type « savane » au laboratoire, et de donner des éléments supplémentaires de compréhension au rôle de cette glossine dans l'épidémiologie de la maladie.

MOTS CLÉS : *Glossina tachinoides*, *Trypanosoma congolense*, compétence vectorielle, capacité vectorielle, salivation, PCR, épidémiologie.

INTRODUCTION

Les trypanosomoses humaines et animales restent de nos jours un problème majeur en Afrique subsaharienne où sévissent les mouches tsé-tsé ou glossines, vecteurs cycliques de cette maladie. Des relations complexes associent le trypanosome, protozoaire flagellé responsable des pathologies, et la glossine où s'effectue le cycle de développement du parasite comprenant différents stades de multiplication et

de maturation. L'efficacité de la transmission dépend à la fois de mécanismes intrinsèques, liant le parasite et le vecteur, et de facteurs extrinsèques, essentiellement environnementaux. On distingue ainsi, d'une part la compétence vectorielle qui est l'ensemble des composantes permettant l'installation, la multiplication et la maturation des trypanosomes, rendant une glossine apte à disséminer la maladie, et d'autre part la capacité vectorielle qui est le nombre de nouvelles transmissions par situation et par jour, assurant la pérennité de la maladie dans un site donné (Reisen, 1989).

Les glossines appartenant au groupe *morsitans* sont réputées pour être d'excellents vecteurs des trypanosomes appartenant au sous-genre *Nannomonas*. De nombreux travaux font état de l'importance de leur compétence et de leur capacité vectorielles sur le terrain (Harley & Wilson, 1968; Robert & Gray, 1972; Diallo, 1985) et au laboratoire (Lyndhurst, 1936; Moloo & Kutuza, 1988; Moloo *et al.*, 1994). Comparativement, les glossines appartenant au groupe *palpalis* sont considérées, de manière générale, comme des vecteurs peu efficaces de *Trypanosoma congolense* (Willett *et*

* Centre de coopération internationale en recherche agronomique pour le développement (CIRAD), Département d'élevage et de médecine vétérinaire (EMVT), Campus International de Baillarguet, Montpellier-sur-Lez, BP 5035, F-34032 Montpellier Cedex 1.

** Ministry of Agriculture, Animal Industry and Fisheries (Dept. of Entomology), PO Box 102, Entebbe, Uganda.

*** Institut français de recherche scientifique sur le développement en coopération (ORSTOM), BP 5045, F-34032 Montpellier Cedex 1. Correspondance : J.M. Reifenberg, CIRAD c/o ORSTOM, Laboratoire d'Epidémiologie des Maladies à Vecteurs, BP 5045, F-34032 Montpellier Cedex.

Tél. (33) 67 61 75 98 – Fax (33) 67 54 78 00.

E-Mail: duvallet@cirad.fr

al., 1964) et *T. simiae* (Agu, 1984; Moloo *et al.*, 1994). Ces différences de réceptivité seraient dues en partie aux mécanismes complexes d'action des symbiontes intestinaux, les RLO (Rickettsia-Like Organisms) (Welburn et Maudlin, 1989; Maudlin & Welburn, 1994), et également aux préférences trophiques des glossines.

Glossina tachinoides, Westwood 1850, bien qu'appartenant au groupe *palpalis*, est considérée comme un vecteur redoutable des trypanosomoses animales (Gruvel, 1974). Cette glossine riveraine, particulièrement agressive, se distingue par un opportunisme alimentaire lui permettant de s'adapter facilement à son environnement. Ainsi, cette espèce se nourrit fréquemment sur les reptiles si la disponibilité en hôtes mammifères est restreinte, ne serait-ce que la durée d'une saison (Boreham & Gill, 1973; Laveissière & Boreham, 1976; Laveissière, 1986; Küpper *et al.*, 1990). L'analyse sérologique des repas de sang confirme souvent les préférences trophiques de cette glossine pour les varans et les serpents. De plus, les forts taux d'infection dans l'intestin observés sur le terrain (Robert & Gray, 1972) sont souvent attribuables aux trypanosomes à cycle de développement postérograde tels *T. grayi* ou *T. varani*-like (Minter-Goebdloed *et al.*, 1993; Mihok *et al.* 1992), parasites de reptiles réputés non-pathogènes. Dans l'état actuel des connaissances, peu d'outils permettent d'identifier ces trypanosomes dans les organes de la glossine. La mise en culture des formes procycliques et l'étude de leur cycle de développement chez la glossine après leur ingestion *in vitro* permet de distinguer les trypanosomes pathogènes à cycle de développement antérograde des parasites non-pathogènes à cycle de développement postérograde (McNamara & Snow, 1991). Néanmoins, cette méthode est longue et astreignante, inconcevable pour des études de grande ampleur. Une sonde nucléique spécifique de *T. grayi* est en cours de production (McNamara & Snow, 1991), mais dans l'état actuel des connaissances aucun marqueur moléculaire n'autorise une identification précise de ces parasites.

Le rôle exact de *G. tachinoides* dans l'épidémiologie des trypanosomoses est relativement méconnu. Les taux d'infections matures de type *Nannomonas* (présence de parasites dans l'intestin et le proboscis) chez cette espèce sont souvent faibles alors que les prévalences chez le bétail sont importantes. En revanche, certains travaux font état de nombreuses infections du type *Duttonella* (présence de trypanosomes dans le proboscis uniquement) (Baldry, 1964; Leak, 1996), conférant à *G. tachinoides* dans certaines situations un rôle important dans la transmission cyclique de *T. vivax*. La transmission mécanique par les glossines est une réalité démontrée au laboratoire (Bouet & Roubaud, 1912; Wells, 1972; Krinsky, 1976; Moloo, 1982; Robert *et al.*, 1989) mais délicate à révéler sur le ter-

rain. *G. tachinoides*, par son comportement singulièrement agressif, pourrait constituer un vecteur mécanique potentiel en plus de son rôle de vecteur cyclique bien reconnu.

Nous nous sommes donc intéressés, au laboratoire, au comportement de *G. tachinoides* infectée expérimentalement par une souche de *T. congolense*. Deux objectifs ont guidé notre travail, d'une part, éclaircir la réceptivité de cette glossine à ce trypanosome, d'autre part, suivre l'émission parasitaire au moment de la salivation, grâce à différentes techniques de détection des trypanosomes sur l'insecte vivant qui seront ainsi évaluées et comparées.

MATÉRIEL ET MÉTHODES

GLOSSINE ET TRYPANOSOME

Cette étude porte sur *Glossina tachinoides* Westwood 1850, originaire du Burkina Faso, provenant de l'élevage commun CIRAD/ORSTOM. La souche de trypanosome utilisée est *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* E325 (Uilenberg *et al.*, 1973), clone appartenant au type moléculaire « savane », très bien adapté aux rongeurs de laboratoire.

Les trypanosomes émis par une glossine infectée sont de deux formes selon leur stade de maturation. Les épimastigotes, formes non-infectantes qui se multiplient dans le labre, présentent une forme allongée et un flagelle libre. Les métatrypanosomes, formes infectantes localisées dans l'hypopharynx, sont plus trapus avec un flagelle très court ou inexistant.

PCR

Le protocole de la technique PCR, récemment adapté à une étude de terrain (Solano *et al.*, 1995), est décrit par Masiga *et al.*, 1992. Les proboscis sont récupérés dans un tube Eppendorf contenant 50 µl d'eau distillée stérile. La solution est agitée énergiquement afin de libérer les trypanosomes dans le liquide. Les échantillons peuvent être conservés à -20 °C avant d'être analysés. Une fraction de 3 µl de la suspension obtenue est ajoutée au mélange réactionnel pour l'amplification.

INFECTION DES GLOSSINES

Un cryostabilat de *T. congolense* E325 est inoculé par voie intraveineuse à un lapin. Lorsque la parasitémie atteint $0,5.10^6$ à 2.10^6 trypanosomes par millilitre (Herbert & Lumsden, 1976), les glossines ténérales prennent leur premier repas sanguin sur l'hôte infectant. Les individus non gorgés sont éliminés; 182 *G. tachinoides* gorgées sont ainsi retenues dans cette étude. Elles sont entretenues sur un autre lapin nourricier sain

dont la parasitémie éventuelle est régulièrement contrôlée par observation directe d'une goutte de sang à l'état frais au microscope à contraste de phase. Dès l'apparition des trypanosomes, l'animal est remplacé, traité par un trypanocide (acéturate de diminazène, Bérénil®) et placé au repos durant au minimum 15 jours, période pendant laquelle un nouveau lapin est utilisé comme hôte nourricier.

Après une période minimale de 15 jours, durée pendant laquelle le cycle évolutif de *T. congolense* est censé être achevé, trois lots de glossines sont constitués :

- Un lot de 132 individus (36 mâles et 96 femelles) disséqués selon la méthode classique (Itard, 1981; Penchenier et Itard, 1981). L'intestin moyen et le proboscis sont examinés au microscope afin de localiser et répertorier les infections. 40 proboscis aléatoirement choisis parmi les 132 sont retenus pour être soumis à la technique PCR.

- Un lot de 10 femelles, trouvées infectées grâce à la méthode de salivation provoquée sur lame chauffée à 38 °C±1 (Burt, 1946; Youdeowei, 1975) réhabilitée récemment (Gidudu *et al.*, 1995). Notre méthode consiste à faire sonder chaque individu 10 fois consécutivement dans trois gouttes de PSG (tampon Phosphate Salin Glucosé) chauffées, soit au total 30 sondages par femelle. Chaque goutte est examinée au microscope et les individus ayant émis des trypanosomes au cours de ces 30 sondages sont retenus.

Chaque femelle ainsi sélectionnée est soumise, après un jeûne de 72 heures, à trois tests successifs selon la chronologie suivante :

- une première série de 10 sondages successifs dans une première goutte de PSG chauffée, dont l'examen microscopique révèle le nombre et la morphologie des parasites émis,

- une deuxième série de 10 sondages successifs, aussitôt après la première, dans une seconde goutte de PSG. Celle-ci est récupérée grâce à une micropipette pour être analysée par PCR,

- un repas sur souriceau âgé de 10 à 15 jours, permettant d'étudier l'évolution de l'infektivité de chaque mouche par « xénodiagnostic inverse » (Nitcheman & Jacquet, 1990).

La durée du suivi varie selon la longévité de l'individu (de 28 à 70 jours).

Afin de faciliter la discussion, nous définissons un essai comme l'ensemble des trois tests utilisés pour mettre en évidence les parasites à un moment donné.

- Un lot de 40 femelles trouvées non-infectées selon le même protocole de salivation sur lame. Chacune est nourrie, à raison de trois repas successifs espacés de 72 heures, sur un même souriceau. Au terme du dernier repas, chaque glossine est sacrifiée et disséquée. L'intestin moyen et le proboscis sont examinés au microscope. Le proboscis est récupéré dans un tube

Eppendorf contenant 50 µl d'eau distillée stérile pour être analysé par PCR.

Le choix des femelles dans nos expériences de salivation se justifie par leur plus grande longévité compatible avec une plus grande durée d'observation (60 à 90 jours).

La parasitémie des souriceaux est régulièrement contrôlée par examen parasitologique sanguin (état frais). Tout souriceau qui demeure négatif un mois après le dernier repas de la glossine est considéré comme non-infecté.

RÉSULTATS

DISSECTIONS (fig. 1)

Parmi les 132 individus disséqués (36 mâles et 96 femelles), 90 (68,2 %) présentent des parasites dans l'intestin, dont 18 chez les mâles (50 %) et 72 chez les femelles (75 %). Cette différence est significative ($\chi^2 = 7,54$; S¹). Six mâles (16,6 %) et 21 femelles (21,9 %) sont infectés au niveau du labre, parmi lesquels trois mâles (8,3 %) et sept femelles (7,3 %) présentent aussi des métatrypanosomes dans l'hypopharynx. Ces différences entre sexes ne sont pas significatives.

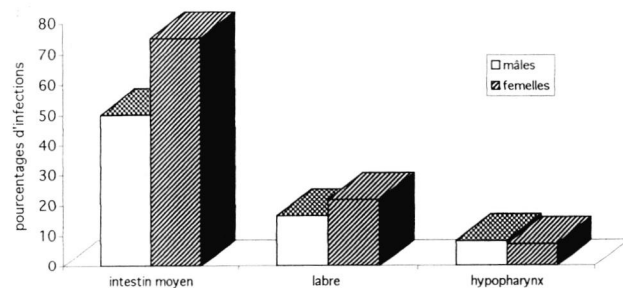


Fig. 1. — Pourcentages d'infection dans les différents organes de *G. tachinoides* mâles et femelles infectés par *T. congolense* E325.

La compétence vectorielle (CVI) a été estimée selon la formule de Le Ray, 1989. La valeur de cet indice est supérieure chez les femelles (CVI = 0,218) par rapport aux mâles (CVI = 0,166). Tous sexes confondus, elle est de 0,204 pour un âge moyen de 45,5 jours (49,4 pour les mâles et 41,6 pour les femelles).

Les résultats de la PCR appliquée sur les proboscis sont conformes à ceux obtenus à l'examen parasitologique. Sur les 40 échantillons testés, les quatre cas positifs révélés à l'examen parasitologique ont été confirmés par PCR. Aucun proboscis négatif à l'examen microscopique n'est apparu positif avec la technique PCR.

1. significatif.

N° glossine Nb essais	G2	G3	G4	G6	G7	G8	G9	G11	G13
Total	139	118	192	121	98	466	119	200	166
f.c.									
moy.	8,17	5,36	14,76	8,06	7,53	19,41	5,66	8,33	8,83
f.c.	(e.t.=14,4)	(e.t.=5,2)	(e.t.=12,7)	(e.t.=8,5)	(e.t.=6,0)	(e.t.=32,3)	(e.t.=5,8)	(e.t.=9,9)	(e.t.=15,0)
Total	21	16	85	8	9	59	49	33	5
f.l.									
moy.	2,33	0,72	6,53	0,53	0,69	2,45	2,33	1,37	0,26
f.l.	(e.t.=4,8)	(e.t.=1,3)	(e.t.=9,9)	(e.t.=1,0)	(e.t.=0,7)	(e.t.=2,8)	(e.t.=3,4)	(e.t.=3,3)	(e.t.=0,6)

f.c. : formes courtes, f.l. : formes longues, moy. : nombre moyen de parasites par glossine et par essai, e.t. : écart type.

Tableau I. — Nombres total et moyen de trypanosomes observés dans les salivats de *G. tachinoides* infectées par *T. congolense* au cours de l'expérience.

SALIVATION SUR LAME CHAUDE

Observation microscopique des salivats des glossines infectantes (tableau I)

Une femelle sur les 10 infectantes désignées est morte en début d'expérience.

Pendant toute la durée de l'expérimentation (39 jours), l'observation microscopique révèle une très grande variabilité du nombre de trypanosomes émis, allant toutes formes confondues de 0 à 153 par test. Le nombre de formes courtes (148 au maximum) est toujours supérieur au nombre de formes longues (36 au maximum). Les proportions respectives sont très fluctuantes dans le temps (fig. 2).

Le nombre moyen de formes courtes émis par glossine varie de 5,36 (nombre d'essais : 22, e.t.² = 5,2) chez l'individu G3 à 19,41 (nombre d'essais : 26, e.t. = 32,3) chez l'individu G8. Le nombre moyen de formes longues varie de 0,26 (nombre d'essais : 19, e.t. = 0,6) chez l'individu G13 à 6,53 (nombre d'essais : 13, e.t. = 9,9) chez l'individu G4.

Analyse par PCR des salivats des glossines infectantes

Les pourcentages de salivats détectés positifs par PCR varient entre un minimum de 75 % pour l'individu G2 à un maximum de 100 % pour les individus G4 et G13 (tableau II).

XÉNODIAGNOSTIC INVERSE SUR SOURICEAUX

Évaluation de l'infectivité sur souriceaux des glossines infectantes

Les pourcentages de souriceaux infectés varient entre un minimum de 22 % pour l'individu G9 à 100 % pour les individus G4 et G13 (tableau II).

2. écart type.

Étude des glossines trouvées non infectées par la technique de salivation (tableau III)

Sur les 40 glossines considérées comme non infectées lors de leur sélection par la technique de salivation, la dissection révèle en fait 10 individus (25 %) présentant des trypanosomes dans le proboscis. Sur ces 10 mouches, sept sont infectées à la fois dans le labre et l'hypopharynx (statut infectant) et trois uniquement dans le labre (statut non infectant). L'âge de ces mouches varie de 52 à 90 jours.

La PCR appliquée sur les pièces buccales confirme les résultats parasitologiques. Les 10 proboscis dans lesquels ont été observés des parasites donnent un signal positif. Les 30 proboscis restants, négatifs à l'examen microscopique, sont aussi négatifs par PCR.

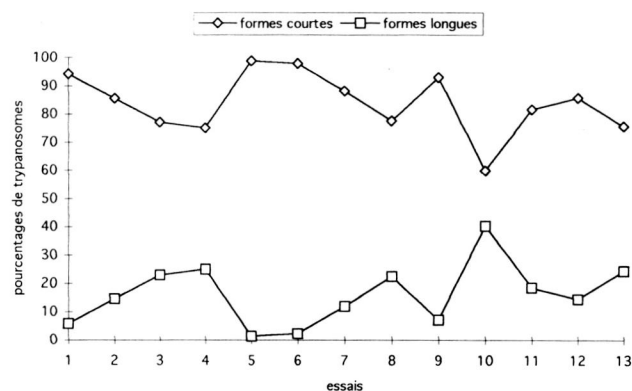


Fig. 2. — Évolution du pourcentage de formes courtes et longues (toute glossine confondue) de *T. congolense* émis par *G. tachinoides* femelles au cours de 13 essais espacés de 72 h (durée du suivi : 39 j).

N° glossine Nb essais	G2	G3	G4	G6	G7	G8	G9	G11	G13
PCR+	12	19	12	14	11	20	16	21	19
% PCR+	75	86	100	93	78	80	84	84	100
Nb essais	15	34	11	14	13	31	31	33	18
Souriceaux+	11	27	11	12	10	20	7	30	18
% Souriceaux+	73	79	100	85	76	64	22	90	100

PCR+/%PCR+ : nombre/pourcentages de salivats répondant positivement à la PCR, souriceaux+/% souriceaux+ : nombre/pourcentages de souriceaux infectés.

Tableau II. — Proportions de PCR positives et de souriceaux positifs observés pendant l'expérience pour chaque *G. tachinoides* infectée par *T. congolense*.

Effectifs	Dissections	Interprétation	PCR/proboscis	Souriceaux
11/40 (27,5 %)	IM-L-H-	négatives	11-	11-
19/40 (47,5 %)	IM+L-H-	non infectantes	19-	19-
3/40 (7,5 %)	IM+L+H-	non infectantes	3+	3-
7/40 (17,5 %)	IM+L+H+	infectantes	7+	5+

IM : intestin moyen, L : labre, H : hypopharynx.

Tableau III. – Glossines trouvées non infectées par la méthode de salivation sur lame chauffée : résultats des dissections, de l'analyse des proboscis par PCR et des tests d'infectivité sur souriceaux.

	Microscope	PCR	Souriceaux
Présence ¹	153	144	146
Absence ²	17	23	54
Total ³	170	167	200
% de cas positifs	90	86,2	73,3

1. Nombre d'observations où la présence de *T. congolense* a été détectée.

2. Nombre d'observations où aucun *T. congolense* n'a été détecté.

3. Nombre total d'observations.

Tableau IV. — Proportions de glossines reconnues infectées par les trois techniques : observation microscopique des salivats, PCR sur les salivats, et xénodiagnostic inverse sur souriceaux.

Le suivi de la parasitémie des souriceaux montre que parmi les sept glossines infectantes, deux n'ont pas transmis la maladie au rongeur nourricier, ceci malgré les trois repas consécutifs sur le même animal. Les trois mouches infectées au niveau du labre mais pour lesquelles aucune forme métacyclique n'avait été constatée dans l'hypopharynx n'ont pas infecté leur animal nourricier.

COMPARAISON DES TECHNIQUES DE DÉTECTION DES TRYPANOSOMES CHEZ LES GLOSSINES TROUVÉES INFECTÉES PAR LA TECHNIQUE DE SALIVATION (tableau IV)

Dans la grande majorité des essais, les trypanosomes sont détectés par une ou plusieurs des trois techniques (examen microscopique et/ou PCR et/ou xénodiagnostic inverse). Néanmoins, dans 2,9 % des observations (cinq essais sur un total de 171), aucun parasite n'a été détecté par au moins l'une des trois techniques au cours du même essai.

3. degrés de liberté.

4. hautement significatif.

L'efficacité de ces trois méthodes de mise en évidence de glossines infectantes est comparée (test du χ^2 de Pearson). Le seuil de signification est fixé à 0,05.

La technique microscopique apparaît plus performante que la technique de xénodiagnostic inverse ($\chi^2 = 17,12$, ddl³ = 1, HS⁴). La technique PCR est aussi plus efficace que le test d'infectivité sur souriceaux ($\chi^2 = 9,60$, ddl = 1, HS). Mais le pourcentage de cas positifs détectés au microscope (90 %) est non significativement différent ($\chi^2 = 1,14$, ddl = 1, NS⁵) du pourcentage de salivats positifs par PCR (86,2 %).

DISCUSSION

Le but de cette expérience était de mieux définir le comportement vecteur de *G. tachinoides* infectée par une souche de trypanosome appartenant à l'espèce *T. congolense*. Ce modèle expérimental nous a également permis d'évaluer différentes techniques de détection des parasites chez l'insecte vivant et chez l'insecte mort. Les résultats des tests de salivations provoquées sur lame chauffée montrent que les techniques microscopique et PCR appliquées sur les salivats sont sensiblement équivalentes pour détecter les glossines infectantes. En revanche, la méthode dite de xénodiagnostic inverse sur souriceau s'est révélée la moins performante. Cette constatation pourrait résulter des contraintes imposées aux glossines au cours des différentes manipulations. Une émission massive des parasites lors des premiers sondages est envisageable, les quantités éjectées diminuant si la glossine est stimulée de manière trop intensive (Roberts, 1981). Cette hypothèse pourrait expliquer que la transmission de la maladie aux souriceaux échoue parfois après deux séries préalables de 10 sondages successifs dans une goutte de PSG.

Cette étude expérimentale révèle une grande variabilité individuelle dans la capacité de *G. tachinoides* à émettre des trypanosomes infectants au cours de la salivation. Dans notre modèle expérimental, les quantités émises se rapprochent des moyennes observées antérieurement chez *G. m. morsitans* infectée par d'autres souches de *T. congolense* (Mawuena *et al.*, 1984). Des observations similaires ont été décrites au laboratoire avec *G. m. morsitans* infectée par la même souche de trypanosome (Gidudu *et al.*, 1995). Cependant, comparativement à *G. m. morsitans*, les quantités émises par *G. tachinoides* sont moins importantes, confirmant les différences indéniables de capacité vectorielle entre les glossines du groupe *morsitans* et les glossines du groupe *palpalis* pour *T. congolense* type « savane » (Gidudu *et al.*, sous

5. non significatif.

presse). Ici, certaines femelles se révèlent des vecteurs plus efficaces que d'autres, tels les individus G4 et G13 qui ont transmis la maladie aux souriceaux dans 100 % des cas et pour lesquels la technique PCR a révélé 100 % de salivats positifs.

Les glossines infectées ont été suivies à partir du moment où elles ont été reconnues aptes à émettre des trypanosomes pendant la salivation. Nous constatons que pour ces individus, le pourcentage de formes courtes, bien que fluctuant, est toujours supérieur au pourcentage de formes longues. Ceci est à rapprocher d'observations récentes montrant à des stades plus précoces de l'infection une augmentation progressive du nombre de formes courtes métacycliques, par rapport aux formes longues qui dominaient en début d'infection (Gidudu *et al.*, 1995).

Au cours de l'expérience, cinq cas se sont présentés où, au cours du même essai, aucune des trois techniques n'a révélé la présence des trypanosomes, alors que les individus apparaissaient infectés au moment de leur sélection. Le solide ancrage des trypanosomes sur la paroi de l'hypopharynx pourrait expliquer qu'ils restent parfois fixés malgré le flux salivaire. De plus, deux glossines sur les sept montrant des métatrypanosomes dans le canal salivaire lors de la dissection n'ont pas transmis la maladie au souriceau nourricier, malgré les trois repas consécutifs. Peut-être est-ce aussi la conséquence d'une discontinuité de maturation et de passage des formes métacycliques non infectantes du labre vers les formes métacycliques infectantes de l'hypopharynx. Ce phénomène d'interruption de l'émission des trypanosomes par une glossine infectante est probablement accentué par les conditions artificielles perturbatrices pour les insectes. Les métatrypanosomes dans le proboscis sont facilement visualisables au microscope. Des doutes subsistaient cependant sur l'exactitude de cette méthode pour détecter un très faible nombre de parasites. Les faibles taux d'infection matures rencontrés chez *G. tachinoides* sur le terrain résulteraient alors des limites de sensibilité de la méthode d'observation.

Dans cette expérience, la technique PCR appliquée sur les proboscis confirme dans tous les cas les résultats parasitologiques. Elle n'apporte pas d'information supplémentaire permettant d'étayer l'hypothèse du manque de fiabilité de l'examen microscopique pour détecter l'absence ou la présence de très peu de parasites dans la trompe. L'intérêt de cette technique repose sur l'identification rapide et précise du ou des trypanosomes présents dans le proboscis des glossines sauvages (Solano *et al.*, 1995).

En revanche, les circonvolutions intestinales peuvent masquer la présence de formes procycliques, *a fortiori* si elles sont peu nombreuses. Une étude expérimentale récente a montré que la technique PCR peut

dévoiler dans le tractus digestif de très faibles infections indécélables à l'examen microscopique (Penchenier *et al.*, sous presse). Il n'est donc pas exclu que dans cette expérience, le nombre d'intestins positifs observé au microscope soit inférieur à la réalité.

Les pourcentages d'infection obtenus dans le cadre de cette expérience confirme la faible affinité reconnue entre les glossines du groupe *palpalis* et cette souche de *T. congolense*. Le couple *G. tachinoides*/*T. congolense* révèle une bonne réceptivité intestinale chez la glossine (installation des procycliques), mais une mise en œuvre difficile des processus de migration et de maturation de *T. congolense* jusqu'au proboscis. A titre de comparaison, la CVI de *G. m. morsitans* vis-à-vis d'autres souches de *T. congolense* au laboratoire varie de 0,5 à 0,957 (Kazadi *et al.*, soumis). Elle est nulle pour *G. palpalis palpalis* et *G. p. gambiensis*. *G. tachinoides* se singularise par sa position intermédiaire entre *G. morsitans* s.l. et *G. palpalis* s.l. non seulement pour les zones biogéographiques qu'elle occupe, mais aussi pour sa compétence vectorielle vis-à-vis de *T. congolense*. Ces faibles taux de maturation corroborent ceux obtenus au laboratoire avec d'autres souches (Moloo & Kutuza, 1988; Robert *et al.*, 1972) et récemment observés dans certaines zones d'Afrique de l'Ouest (résultats non publiés).

Les mécanismes intimes de maturation des formes procycliques intestinales en formes métacycliques infectantes sont fort complexes. Des lectines intestinales (Maudlin & Welburn, 1988; Welburn & Maudlin, 1989; Welburn & Maudlin, 1990) interviennent dans ces mécanismes sans que l'on connaisse leur mode d'action précis. D'autres facteurs physiologiques méconnus ont vraisemblablement une action synergique à celle des différentes lectines engagées (Moloo *et al.*, 1994). Notamment, les trans-sialidases, enzymes intervenant dans le catabolisme de l'acide sialique, montrent une activité accrue pendant les stades procycliques des trypanosomes africains (Engstler & Schauer, 1993; Frasch, 1994). Leur action au niveau proventriculaire est actuellement à l'étude (Coosemans, com. pers.). Ces enzymes, qui facilitent l'invasion de *T. cruzi* dans les cellules de l'hôte mammifère, interviennent aussi pour ce parasite dans la différenciation des épimastigotes en trypomastigotes métacycliques *in vitro* (Schenkman & Eichinger, 1993; Frasch, 1994).

Divers travaux ont évalué la célérité du processus de maturation des formes procycliques vers les formes métacycliques infectantes. Elle a été estimée à trois à sept jours chez *G. m. morsitans* infectée par *T. congolense* (Welburn & Maudlin, 1989) et à 12 jours en moyenne avec différents stocks de *T. brucei* (Maudlin et Welburn, 1994). Nos observations tendent à montrer que ces mécanismes de maturation, s'ils sont en

général précoces, peuvent aussi s'engager parfois tardivement. En effet, l'achèvement différé du cycle pourrait expliquer que 25 % des glossines trouvées non infectées sur lame chauffée, toutes âgées de plus de 30 jours, présentent après dissection des métatrypanosomes dans le proboscis.

Toutes ces observations ne relèvent que de faits de laboratoire. D'une part nos glossines d'élevage sont adaptées depuis de nombreuses années aux conditions artificielles de l'insectarium, d'autre part la souche clonale de parasite est un reflet hautement simplifié de l'hétérogénéité génétique rencontrée sur le terrain. Les glossines sont infectées et entretenues sur des lapins qui ne sont pas leurs hôtes nourriciers habituels, et il a été établi que l'origine du repas de sang pouvait avoir une influence sur les pourcentages d'infection (Moloo, 1981), de même que la nature de l'hôte au cours des repas de sang ultérieurs (Geigy *et al.*, 1971). Sur le terrain, le comportement d'une glossine infectée est influencé par des réactions de défense de l'hôte. Son pouvoir infectant dépend de la quantité de trypanosomes inoculée et de la réponse immunitaire de la victime. Des études portant sur l'infectivité de glossines infectées par *T. brucei rhodesiense* (Fairbairn & Burt, 1946; Harley *et al.*, 1966) et *T. congolense* (Harley & Wilson, 1968) ont montré que très peu de parasites suffisaient pour infecter l'hôte. Dans la nature, les populations de vecteurs, y compris les vecteurs mécaniques potentiels, tels les tabanides et les stomoxes, peuvent pulluler en certaines saisons. La dose minimale infectante peut se trouver répartie en de multiples piqûres occasionnant les prévalences parfois déconcertantes observées sur le bétail. Le caractère éventuellement discontinu de l'émission des parasites à chaque piqûre et les décharges parasitaires parfois faibles sont probablement contrebalancés par l'abondance des vecteurs en présence et de leurs piqûres interrompues mais répétées.

CONCLUSION

Cette approche expérimentale a permis d'approfondir nos connaissances sur la capacité et la compétence vectorielle de *G. tachinoides* vis-à-vis de *T. congolense*. Cette espèce de glossine se distingue dans notre expérience par le paradoxe entre une bonne réceptivité intestinale et une très faible capacité à permettre la maturation, l'infection ne progressant pas au-delà de l'intestin moyen dans la majorité des cas. Ces observations de laboratoire sont en accord avec celles des situations en conditions naturelles, et l'évaluation des techniques plus sensibles de biologie moléculaire renforce la fiabilité des techniques parasitologiques classiques pour révéler les glossines infectantes.

Outre leur sensibilité, l'intérêt de ces biotechnologies en conditions naturelles repose surtout dans l'identification précise des trypanosomes chez le vecteur et l'hôte mammifère (Majiwa *et al.*, 1994; McNamara *et al.*, 1995; Solano *et al.*, 1995; Reifenberg *et al.*, soumis). L'étude de l'émission provoquée des trypanosomes par *G. tachinoides* montre que, si l'expulsion des parasites au moment de la salivation et de la piqûre n'est pas un phénomène continu, l'interruption du processus semble relativement rare. De plus, une grande variabilité intra et inter-individuelle est constatée dans l'émission parasitaire, vraisemblablement accentuée par les conditions artificielles de l'expérience.

Malgré sa faible aptitude à acquérir l'infection au laboratoire, la forte capacité vectorielle de *G. tachinoides* à transmettre *T. congolense* sur le terrain résulte probablement davantage de son comportement bien particulier. En effet, cette espèce péridomestique est en contact étroit et souvent permanent avec ses hôtes (Baldry, 1969; Jordan, 1986), si bien qu'un petit nombre d'individus infectants peut assurer l'apparition et le maintien de foyers de la maladie, dont l'amplification et l'extension dépend d'autres vecteurs cycliques et mécaniques (d'Amico *et al.*, 1996; Solano & Amsler-Delafosse, 1995) présents dans les mêmes sites.

REMERCIEMENTS

Nous remercions tout particulièrement P. Majiwa (ILRI, International Livestock Research Institute, Nairobi, Kenya) et A. Diallo (EMVT-Pathotrop, Montpellier, France) pour nous avoir aimablement fourni les amorces spécifiques pour la PCR, B. Tchikaya (EMVT) pour l'entretien et la gestion rigoureuse de l'élevage de glossines commun CIRAD/ORSTOM.

Ce travail a été financé par le Centre de coopération Internationale en Recherche Agronomique pour le Développement (CIRAD), Département d'Élevage et de Médecine Vétérinaire (EMVT).

RÉFÉRENCES

- AGU W.E. Comparative study of the susceptibility to infection with *Trypanosoma simiae* of *Glossina morsitans* and *G. tachinoides*. *Acta Tropica*, 1984, 41, 131-134.
- BALDRY D.A.T. Observations on a close association between *Glossina tachinoides* and domestic pigs near Nsukka, Eastern Nigeria II – Ecology and trypanosome infection rates in *G. tachinoides*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1964, 58, 32-44.
- BALDRY D.A.T. The epidemiological significance of recent observations in Nigeria on the ecology of *Glossina tachinoides* Westwood (Diptera: Muscidae). *Bulletin of Entomological Society*, 1969, 2, 34-38.

- BALDREY D.A.T. Variations in the Ecology of *Glossina* spp. with special reference to Nigerian populations of *Glossina tachinoides*. *Bulletin of the World Health Organization*, 1969, 40, 859-869.
- BOREHAM P.F.L. & GILL G.S. Serological identification of reptile feeds of *Glossina*. *Acta Tropica* 1973, 30, 356-365.
- BOUET G. & ROUBAUD M. Expériences de transmission des trypanosomiasés animales de l'Afrique Occidentale française par les stomoxes. *Bulletin de la Société des Pathologies Exotiques*, 1912, 5, 544-550.
- BURTT E. Salivation by *Glossina morsitans* on to glass slides: a technique for isolating infected flies. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1946, 50, 141-144.
- D'AMICO F., CUISANCE D., GOUTEUX J.P., LE GALL F. & FOIL L.D. Are stable flies (Diptera: Stomoxyinae) vectors of *Trypanosoma vivax* in the Central African Republic? *Veterinary Research*, 1996, 27, 161-170.
- DIALLO A. *Glossina morsitans submorsitans* Newstead, 1910 (Diptera, Glossinidae) : son écologie et son rôle dans les trypanosomoses animales en zone de savane soudano-guinéenne du Mali (ranch de Madina-Diassa). Thèse de doctorat, 1985, Faculté des Sciences et Techniques de Saint-Jérôme, Aix Marseille III.
- ENGSTLER M. & SCHAUER R. Sialidases from African trypanosomes. *Parasitology Today*, 1993, 9, 222-225.
- FAIRBAIRN H. & BURTT E. The infectivity to man of a strain of *Trypanosoma rhodesiense* transmitted cyclically by *Glossina morsitans* through sheep and antelope: evidence that man requires a minimum infective dose of metacyclic trypanosomes. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1946, 40, 270.
- FRASCH A.C.C. Trans-sialidases in the insect-vector stages of African and American trypanosomes. *Parasitology Today*, 1994, 10, 170-171.
- GEIGY R., KAUFFMANN M., STEIGER R. & BRUN R. Influence of blood-meals from different donors on the infection rates of *Trypanosoma brucei* in *Glossina*. *Acta Tropica* 1971, 28, 164-169.
- GIDUDU A., CUISANCE D., REIFENBERG J.M. & FREZIL J.L. Amélioration de la technique de salivation des glossines pour la détection des métatrypanosomes infectants : étude de quelques facteurs biologiques et non biologiques sur le comportement de sondage des glossines. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, 1995, 48, 153-160.
- GIDUDU A., CUISANCE D., REIFENBERG J.M. & FREZIL J.L. Contribution à l'étude de l'émission de *Trypanosoma congolense* par *Glossina morsitans morsitans* (Diptera, Glossinidae) au laboratoire. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, 1995, 48, 264-270.
- GIDUDU A., CUISANCE D., REIFENBERG J.M. & FREZIL J.L. Émission de *Trypanosoma congolense* dans la salive et dans la goutte anale chez *Glossina morsitans morsitans* et *Glossina tachinoides* (Diptera : Glossinidae) au laboratoire. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, sous presse.
- GRUVEL J. Contribution à l'étude écologique de *Glossina tachinoides* Westwood, 1850 (Diptera, Muscidae) dans la réserve de Kalamaloue, Vallée du Bas-Chari. Thèse de Doctorat, 1974, Université de Paris VI.
- HARLEY J.M.B. & WILSON A.J. Comparison between *Glossina morsitans*, *G. pallidipes* and *G. fuscipes* as vectors of trypanosomes of the *Trypanosoma congolense* group: the proportions infected experimentally and the numbers of infective organisms extruded during feeding. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1968, 62, 178-187.
- HARLEY J.M.B., CUNNINGHAM M.P. & VAN HOEVE K. The numbers of infective *Trypanosoma rhodesiense* extruded by *Glossina morsitans* during feeding. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1966, 60, 455.
- HERBERT W.J. & LUMSDEN W.H.R. *Trypanosoma brucei*. A « matching » method for estimating the host's parasitemia? *Experimental Parasitology*, 1976, 72, 430-439.
- ITARD J. Les trypanosomoses animales africaines, in: Précis de Parasitologie vétérinaire tropicale, Ministère de la Coopération et du Développement - IEMVT, Paris, 1981, 395-469.
- JORDAN A.M. *Trypanosomiasis control and African rural development*. Longman Inc. New York, 1986, 357 p.
- KAZADI J.M., MARTIN O., VAN HEES J. & KAGERUKA P. Compétence vectorielle de *Glossina morsitans morsitans* vis-à-vis de *Trypanosoma congolense* réactive sur rat (soumis).
- KAZADI J.M., KAGERUKA P., GNANVI C., DE DEKEN R. & LOSSON B. Compétence vectorielle des mouches non ténéales de *Glossina palpalis palpalis*, *Glossina palpalis gambiensis* et *Glossina morsitans morsitans* vis-à-vis de *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* (Brodén, 1904), IL 1180 (soumis).
- KRINSKY W.L. Animal disease agents transmitted by horse flies and deer flies (Diptera: Tabanidae). *Journal of Medical Entomology*, 1976, 13, 225-275.
- KÜPPER W., STAAK C. & SPÄTH J. Natural hosts of *Glossina tachinoides* (Diptera: Glossinidae) in northern Côte d'Ivoire. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1990, 41, 217-218.
- LAVEISSIÈRE C. & BOREHAM P.F.L. Écologie de *Glossina tachinoides* Westwood, 1850, en savane humide d'Afrique de l'Ouest. *Cahiers ORSTOM, Série Entomologie Médicale et Parasitologie*, 1976, 13, 187-200.
- LAVEISSIÈRE C. *Épidémiologie et contrôle de la trypanosomiase humaine en Afrique de l'Ouest*. Thèse de doctorat 1986, Université de Paris-Sud Centre d'Orsay.
- LEAK S.G.A. *A contribution to the epidemiology and understanding of tsetse-transmitted trypanosomiasis*. PhD-thesis 1996, University Academic Building of Utrecht, Domplein 29, Utrecht.
- LE RAY D. Vector susceptibility to african trypanosomes. *Annales de la Société belge de Médecine tropicale*, 1989, 69, 165-171.
- LYNDHURST H.D. On the power of *Glossina morsitans* and *Glossina palpalis* to transmit the trypanosomes of the *brucei* group. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1936, 30, 37-38.
- MCMANARA J.J. & SNOW W.F. Improved identification of *Nannomonas* infections in tsetse flies from The Gambia. *Acta Tropica* 1991, 48, 127-136.

- McNAMARA J.J., LAVEISSIÈRE C. & MASIGA D.K. Multiple trypanosome infections in wild tsetse in Côte d'Ivoire detected by PCR analysis and DNA probes. *Acta Tropica* 1995, 59, 85-92.
- MASIGA D.K., SMYTH A.J., HAYES P., BROMIDGE T.J. & GIBSON W.C. Sensitive detection of trypanosomes in tsetse flies by DNA amplification. *International Journal of Parasitology* 1992, 22, 909-918.
- MAJIWA P.A.O., THATITHI R., MOLOO S.K., NYEKO J.H.P., OTIENO L.H. & MALOO S. Detection of trypanosome infections in the saliva of tsetse flies and buffy-coat samples from anti-genaemic but aparasitaemic cattle. *Parasitology* 1994, 108, 312-322.
- MAUDLIN I. & WELBURN S.C. Maturation of trypanosomes infections in tsetse. *Experimental Parasitology*, 1994, 79, 202-205.
- MAUDLIN I. & WELBURN S.C. A single trypanosome is sufficient to infect a tsetse fly. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1989, 83, 431-433.
- MAUDLIN I., WELBURN S.C. & MEHLITZ D. The relationship between rickettsia-like-organisms and trypanosome infections in natural populations of tsetse in Liberia. *Tropical Medicine and Parasitology*, 1990, 41, 265-267.
- MAUDLIN I. & WELBURN S.C. Maturation of trypanosomes infections in tsetse. *Experimental Parasitology*, 1994, 79, 202-205.
- MAUDLIN I. & WELBURN S.C. The role of lectins and trypanosome genotype in the maturation of midgut infections in *Glossina morsitans*. *Tropical Medicine and Parasitology*, 1988, 39, 56-58.
- MAWUENA K., DOUMEY K. & AKAKPO K. Nombre probable de *Trypanosoma (Nannomonas) congolense* transmis par *Glossina morsitans*. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, 1984, 37, 186-191.
- McNAMARA J.J., LAVEISSIÈRE C. & MASIGA D.K. Multiple trypanosome infections in wild tsetse in Côte d'Ivoire detected by PCR analysis and DNA probes. *Acta Tropica*, 1995, 59, 85-92.
- McNAMARA J.J. & SNOW W.F. Improved identification of *Nannomonas* infections in tsetse flies from The Gambia. *Acta Tropica*, 1991, 48, 127-136.
- MIHOK S., MUNYOKI E., BRETT R., JONYO J.F., ROTTCHER D., MAJIWA P.A.O., KAANG'ETHE E., KABURIA H.F.A. & ZWEYGART E. Trypanosomiasis and the conservation of black rhinoceros (*Diceros bicornis*) at the Ngulia Rhino Sanctuary, Tsavo West, National Park, Kenya. *African Journal of Ecology*, 1992, 30, 103-115.
- MINTER-GOEBDLOEB E., LEAKE C.J., MINTER D.M., McNAMURA J., KIMBER C., BASTIEN P., EVANS D.A. & LE RAY D. *Trypanosoma varani* and *T. grayi*-like trypanosomes: development *in vitro* and in insect hosts. *Parasitology Research*, 1993, 79, 329-333.
- MOLOO S.K., KABATA J.M. & SABWA C.L. A study on the maturation of procyclic *Trypanosoma brucei brucei* in *Glossina centralis* and *G. brevipalpis*. *Medical and Veterinary Entomology*, 1994, 8, 369-374.
- MOLOO S.K. & KUTUZA S.B. Comparative study on the infection rates of different laboratory strains of *Glossina* species by *Trypanosoma congolense*. *Medical and Veterinary Entomology*, 1988, 2, 253-257.
- MOLOO S.K. Effects of maintaining *Glossina morsitans morsitans* on different hosts upon the vector's subsequent infection rates with pathogenic trypanosomes. *Acta Tropica*, 1981, 38, 125-136.
- MOLOO S.K. Cyclical transmission of pathogenic *Trypanosoma* species by gamma-irradiated sterile male *Glossina morsitans morsitans*. *Parasitology*, 1982, 84, 289-296.
- MOLOO S.K. & KUTUZA S.B. Comparative study on the infection rates of different laboratory strains of *Glossina* species by *Trypanosoma congolense*. *Medical and Veterinary Entomology* 1988, 2, 253-257.
- MOLOO S.K., ZWEYGARTH E. & SABWA C.L. Comparative study on the susceptibility of different laboratory strains of *Glossina* species to *Trypanosoma simiae*. *Medical and Veterinary Entomology*, 1994, 8, 225-230.
- NITCHMAN S. & JACQUIET P. Utilisation de souriceaux pour la mise en évidence de l'inféctivité des glossines. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, 1990, 43, 219-223.
- PENCHENIER L., DUMAS V., GREBAUT P., REIFENBERG J.M. & CUNY G. Improvement of blood and fly gut processing for PCR diagnosis of *Trypanosoma*. *Parasite*, sous presse.
- PENCHENIER L. & ITARD J. Une nouvelle technique de dissection rapide des glandes salivaires et de l'intestin des glossines. *Cahiers ORSTOM, Série Entomologie médicale et Parasitologie*, 1981, 19, 55-57.
- REIFENBERG J.M., SOLANO P., DUVALLET G., CUISANCE D., SIMPORE J. & CUNY G. Molecular characterization of the different *Nannomonas* type trypanosomes isolated around Bobo-Dioulasso, Burkina Faso (soumis).
- REISEN W.K. Estimation of vectorial capacity: introduction. *Bulletin of Society for Vector Ecology*, 1989, 14, 39-40.
- ROBERT C.J. & GRAY A.R. A comparison of *G. morsitans submorsitans* Newst. and *G. tachinoides* West., collected and maintained under similar conditions, as vectors of *Trypanosoma (Nannomonas) congolense*, *T. (N) simiae* and *T. (Duttonella) vivax*. *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1972, 66, 41-53.
- ROBERTS L.W. Probing by *Glossina morsitans morsitans* and transmission of *Trypanosoma (Nannomonas) congolense*. *American Journal of Tropical Medicine and Hygiene* 1981, 30, 948-951.
- ROBERTS L.W., WELDE B.T., REARDON M.J. & ONYANGO F.K. Mechanical transmission of *Trypanosoma brucei rhodesiense* by *Glossina morsitans morsitans* (Diptera: Glossinidae). *Annals of Tropical Medicine and Parasitology*, 1989, 83, 127-131.
- SCHENKMAN S. & EICHINGER D. *Trypanosoma cruzi* trans-sialidase and cell invasion. *Parasitology Today*, 1993, 9, 218-222.
- SOLANO P., ARGIRO L., REIFENBERG J.M., YAO Y. & DUVALLET G. Use of PCR for detection and identification of trypanosome infections in tsetse flies from the field: preliminary results. *Molecular Ecology*, 1995, 4, 781-785.
- SOLANO P. & AMSLER-DELAFOSSÉ S. *Trypanosoma congolense* chez différentes espèces de taons (Diptera : Tananidae)

- au Burkina Faso. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, 1995, 48, 145-146.
- SOLANO P., REIFENBERG J.M., AMSLER-DELAFOSSÉ S., KABORE I., CUISANCE D. & DUVALLET G. Trypanosome characterization by polymerase chain reaction in *Glossina palpalis gambiensis* and *G. tachinoides* (Diptera, Glossinidae) in Burkina Faso. *Medical and Veterinary Entomology*, sous presse.
- UILENBERG G., MAILLOT L. & GIRET M. Études immunologiques sur les trypanosomoses. II – Observations nouvelles sur le type antigénique de base d'une souche de *Trypanosoma congolense*. *Revue d'Élevage et de Médecine vétérinaire des Pays tropicaux*, 1973, 26, 27-35.
- WELBURN S.C. & MAUDLIN I. Lectin signalling of maturation of *T. congolense* infections in tsetse. *Medical and Veterinary Entomology*, 1989, 3, 141-145.
- WELBURN S.C. & MAUDLIN I. Haemolymph lectin and the maturation of trypanosome infections in tsetse. *Medical and Veterinary Entomology* 1990, 4, 43-48.
- WELLS E.A. The importance of mechanical transmission in the epidemiology of Nagana: a review. *Tropical Animal Health and Production*, 1972, 4, 74-88.
- WILLETT K.C., MCMAHON J.P., ASHCROFT M.T. & BAKER J.R. Trypanosomes isolated from *Glossina palpalis* and *G. pallidipes* in Sakwa, Kenya. *Transactions of the Royal Society of Tropical Medicine and Hygiene*, 1964, 58, 391-396.
- YOUDEOWEI A. A simple technique for observing and collecting the saliva of tsetse flies (Diptera, Glossinidae). *Bulletin of Entomological Research*, 1975, 65, 65-67.

Reçu le 14 mars 1996
 Accepté le 28 mai 1996